

PUB-NO: DE003732142A1

**DOCUMENT-
IDENTIFIER:** DE 3732142 A1

TITLE: Process for the production of a glass plate provided with a mask, and
stamping element for carrying out the process

PUBN-DATE: April 6, 1989

INVENTOR-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
PETERS, JOHANN HINRICH PROF DR	DE

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME	COUNTRY
HERAEUS GMBH W C	DE

APPL-NO: DE03732142

APPL-DATE: September 24, 1987

PRIORITY-DATA: DE03732142A (September 24, 1987)

INT-CL (IPC): C12M003/00

EUR-CL (EPC): C12M001/20

US-CL-CURRENT: 435/305.1 , 435/305.2

ABSTRACT:

CHG DATE=19990617 STATUS=O> A process for the production of a glass plate provided with a mask for cell culture purposes is known. In order to develop such a process further to make it possible to produce a plurality of glass plates with the same mask, the intention being that it be possible to apply very small culture zones which are separate from one another, a stamping element is used to produce connected hydrophobic area regions which form the mask and surround hydrophilic uncoated regions on which cells can be placed.

⑬ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑪ **DE 3732142 A1**

⑤ Int. Cl. 4:
C12M 3/00
// C12M 1/00

⑳ Aktenzeichen: P 37 32 142.0
㉑ Anmeldetag: 24. 9. 87
㉒ Offenlegungstag: 6. 4. 89

Patentamt
Hannover

DE 3732142 A1

⑦① Anmelder:
W.C. Heraeus GmbH, 6450 Hanau, DE

⑦② Erfinder:
Peters, Johann Hinrich, Prof. Dr., 3400 Göttingen, DE

⑤④ Verfahren zur Herstellung einer mit einer Maske versehenen Glasplatte sowie Stempelkörper zur Durchführung des Verfahrens

Es ist ein Verfahren zur Herstellung einer mit einer Maske versehenen Glasplatte für Zellenkulturzwecke bekannt. Um ein solches Verfahren dahingehend weiterzubilden, daß eine Vielzahl von Glasplatten mit gleicher Maske hergestellt werden können, wobei die Möglichkeit gegeben sein soll, sehr kleine voneinander getrennte Kulturfelder anzulegen, werden mit einem Stempelkörper hydrophobe, die Maske bildende, zusammenhängende Flächenbereiche erzeugt, die hydrophile unbeschichtete Bereiche umschließen, auf die Zellen aufgebracht werden können.

DE 3732142 A1

Patentsprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer mit einer Maske versehenen Glasplatte für Zellenkulturzwecke, dadurch gekennzeichnet, daß mit einem Stempelkörper hydrophobe, die Maske bildende, zusammenhängende Flächenbereiche erzeugt werden, die hydrophile unbeschichtete Bereiche umschließen, auf denen Zellen aufgebracht werden können.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Stempelkörper aus Silikonkautschuk verwendet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß auf die positive Fläche der Stempelkörpers vor ihrem Aufdrücken auf die Glasplatte eine hydrophobe, zellenunempfindliche Stempelmasse aufgebracht wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Stempelmasse ein Silikonöl verwendet wird.
5. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Stempelmasse eine Silan enthaltende Masse verwendet wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Stempelkörper für mindestens 10 Stunden auf die Glasplatte aufgesetzt wird.
7. Stempelkörper zur Durchführung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß er aus Silikonkautschuk besteht.
8. Stempelkörper nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die positive Stempelfläche mikroporös ist.

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer mit einer Maske versehenen Glasplatte für Zellenkulturzwecke sowie einen Stempelkörper zur Durchführung des Verfahrens.

Ein derartiges Verfahren ist allgemein bekannt. Zum Anlegen einer Vielzahl einzelner, voneinander getrennter Zellkulturen oder Zellpräparationen werden üblicherweise auf einer Glasplatte Zellkulturfelder aufgebracht, indem eine Abdeckfolie, die einzelne freie Felder aufweist, als Maske auf die Glasplatte aufgelegt und in die freien Felder die Zellen eingesetzt werden. Die Folie ist dünn, aber leicht erhaben und verbleibt auf der Glasplatte (Glasobjektträger).

Insbesondere werden diese Kulturen zur Herstellung von Zytopräparaten verwendet. Hierzu läßt man spontan adhesionsfähige Zellen sich anheften, oder es werden die nicht abgedeckten Objektträgerfelder mit Poly-L-Lysin oder Lektinen beschichtet, das das Adhären von suspendierten Zellen auf dem Objektträger ermöglicht. Diese Objektträger können dann zusätzlich in einer Zentrifuge zentrifugiert werden, wobei der Grad der Abflachung der Zellen durch die Drehzahl der Zentrifuge steuerbar ist.

Eine andere Möglichkeit, Kulturfelder anzulegen, ist in der DE-OS 29 02 026 beschrieben. Gemäß dieser Schrift wird ein biologisches Gefäß verwendet, bestehend aus einer Glasplatte und einem wabenförmigen, flexiblen Körper aus Kunststoff, dessen Unterseite eine ebene, glatte Haftfläche aufweist, über die nach Aufsetzen dieses Körpers auf die Glasplatte sich der Körper festsaugt. Der Körper besteht aus flüssigkeitsdicht haftendem, kautschukelastischem, nicht zytotoxischem

Kunststoff. Die einzelnen Kammern können mit Zellkulturen gefüllt werden; der Wannenkörper kann jederzeit von der Glasplatte wieder entfernt werden.

Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung einer Vielzahl mit gleicher Maske versehener Glasplatten zu schaffen, wobei die Möglichkeit gegeben ist, sehr kleine voneinander getrennte Kulturfelder anzulegen, die durch hydrophobe, aber nicht erhabene Bereiche voneinander getrennt sind, ohne daß hierzu aufwendige Verfahrensschritte erforderlich sind sowie ein entsprechendes Hilfsmittel zur Durchführung des Verfahrens anzugeben.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß mit einem Stempelkörper hydrophobe, die Maske bildende, zusammenhängende Flächenbereiche erzeugt werden, die hydrophile unbeschichtete Bereiche umschließen, auf denen Zellen aufgebracht werden können. Dadurch, daß ein Stempelkörper verwendet wird, können sehr fein strukturierte Masken auf eine Glasplatte aufgebracht werden. Diese Stempeltechnik erlaubt gleiche Masken wiederholt auf einzelne Glasplatten aufzudrucken. Hydrophobe Flächenbereiche, die die einzelnen Kulturfelder voneinander trennen, können dadurch erzielt werden, daß der Stempelkörper auf seiner Stempelfläche, die sehr glatt sein sollte, vor den einzelnen Stempelvorgängen mit einer hydrophoben, zellenunempfindlichen Stempelmasse bedeckt wird. Hierzu eignet sich insbesondere eine ein Silikonöl oder eine ein Silan enthaltende Masse, die sehr dünn aufgebracht werden kann und allen Anforderungen, insbesondere durch ihre nicht toxischen Eigenschaften, der Zellpräparation gerecht wird. Es besteht auch die Möglichkeit, einen Stempelkörper aus Silikonkautschuk zu bilden und diesen Stempelkörper unter leichtem Druck auf die einzelnen Glasplatten aufzulegen. Es hat sich gezeigt, daß bereits nach kurzem Aufsetzen des Stempelkörpers aus Silikonkautschuk im Bereich von einigen Minuten auf eine solche Glasplatte, die eine sehr glatte Oberfläche aufweist, ein Silikonfilm verbleibt. Der Stempelkörper aus durchpolymerisiertem Silikon kann dazu geeignet sein, minimale Mengen an Silikon an die Glasplatte abzugeben. Um eine gleichmäßige Maske zu erzielen, sollte der Stempel aus Silikonkautschuk unter leichtem Druck auf die Glasplatte aufgesetzt werden und für mehrere Stunden, bevorzugt über etwa acht bis zehn Stunden, beispielsweise über eine Nacht, dort verbleiben. Gegebenenfalls kann der Stempelkörper geringfügig während dieser Zeit beschwert werden.

Weitere Einzelheiten und Merkmale der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung eines Ausführungsbeispiels anhand der Zeichnung. Es zeigen Fig. 1 einen Stempel zur Durchführung des Verfahrens,

Fig. 2 eine Ansicht auf die Unterseite des Stempelkörpers nach Fig. 1 und

Fig. 3 eine Glasplatte mit einer hydrophoben Maske, die runde hydrophile Felder umschließt.

Ein Stempelkörper 1 aus Silikonkautschuk ist, wie Fig. 1 zeigt, an die Unterseite eines Trägers 2, der an einem Griff 3 gehandhabt werden kann, angeklebt. Der Stempelkörper 1 besitzt vorstehende Stege 4, die mehrere Hohlräume 5 umschließen. Diese Hohlräume 5 sind entsprechend der gewünschten Größe der zu erzeugenden Kulturfelder gewählt, die auf einer Glasplatte 6, wie sie Fig. 1 zeigt, gebildet werden sollen. Hierzu wird der Stempelkörper 1 auf die Glasplatte 6 aufgedrückt, bis sich der Stempelkörper 1 mit seiner glatten Stempelflä-

che 7 auf der Glasplatte 6 festsaugt. Der Stempelkörper 1 aus Silikonkautschuk, der sehr weich sein sollte, zeigt bereits nach kurzer Zeit ein adhesives Haften an der Glasplatte 6, das zur Folge hat, daß beim Abnehmen des Stempelkörpers 1 von der Glasplatte 6 eine Maske in Form von auf die Glasplatte 6 aufgedruckten haftenden Streifen 8 aus Silikon entstehen. Bevorzugt wird der Stempel vor dem Aufdrücken auf die Glasplatte 6 mit einer Stempelmasse in Form eines Silikonöles oder einer ein Silan enthaltenden Masse bedeckt, die dann an die Glasplatte 6 abgegeben wird. Hierzu ist die Stempel- fläche 7 des Stempelkörpers 1 mikroporös ausgebildet, damit der Stempelkörper 1 Stempelmasse aufnehmen kann.

Fig. 3 zeigt eine abgewandelte Ausführungsform, bei der auf die Glasplatte 6 eine Maske 9 aus einer hydrophoben Masse aufgestempelt ist, die mehrere kreisrunde hydrophile Flächen 10 umschließt; in diesen Bereichen 10 können Zellen angesetzt werden.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

3732142

Nummer:
Int. Cl.4:
Anmeldetag:
Offenlegungstag:

37 32 142
C 12 M 3/00
24. September 1987
6. April 1989

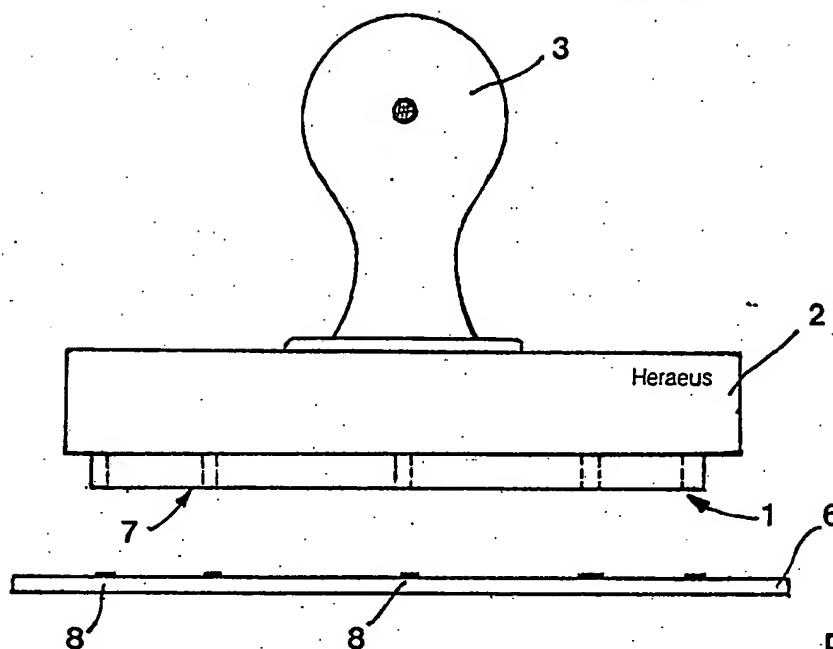


FIG. 1

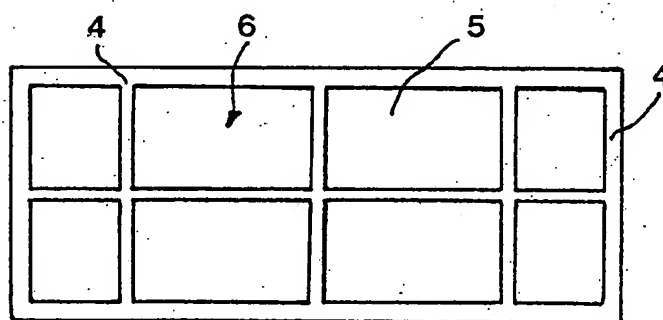


FIG. 2

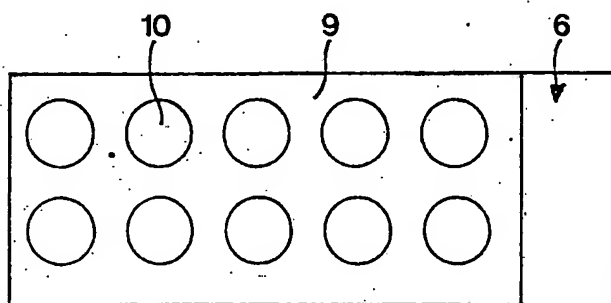


FIG. 3